

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57-116015

⑬ Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和57年(1982)7月19日

A 61 K 31/47

A D U

6675-4C

発明の数 1

C 07 D 491/22

8115-4C

審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑮ 抗腫瘍剤

⑯ 特 願 昭56-1150

⑰ 出 願 昭56(1981)1月9日

⑱ 発 明 者 宮坂貞

横浜市緑区青葉台1丁目27番11号

⑲ 発 明 者 務台方彦

東大和市清水4丁目988番地

⑳ 発 明 者 横倉輝男

東京都世田谷区祖師谷1丁目36番8号

㉑ 発 明 者 沢田誠吾

東京都目黒区緑が丘3丁目6番13号

㉒ 発 明 者 野方健一郎

三鷹市牟礼3丁目2番5号

㉓ 発 明 者 古田富雄

国立市北2丁目15番6号さつき荘

㉔ 出 願 人 株式会社ヤクト本社

東京都港区東新橋1丁目1番19号

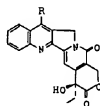
㉕ 代 理 人 弁理士 南孝夫

明 細 書

1. 発明の名称 抗腫瘍剤

2. 特許請求の範囲

一般式

(式中Rは低级アルキル基であるか又はCH₂OR¹又はCHO又はCOOHであり、R¹はH又はアルキル基である)

で表わされるカンプトテシン誘導体を有効成分とする抗腫瘍剤。

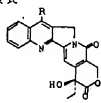
3. 発明の詳細な説明

本発明は新規な抗腫瘍剤に関するものである。

従来、癌の化学療法剤として、アルキル化剤、劇毒剤、抗癌物質等が用いられているが、一般に、化学療法剤は毒性及び副作用が強く、十分な治療効果を与える化学療法剤はまだ得られていないのが実情である。

カンプトテシンは落葉喬木喜樹 (Camptotheca acuminata Sieber) から抽出・単離されたアルカロイドで、強力な抗腫瘍作用を有し、その作用は迅速かつ可逆性を示すことが特異で、既存の制癌剤と交叉耐性を示さないという独特な作用機作をもつ抗腫瘍性物質であり、マウス白血病 L1210、ラットコロナー 256 肉腫など実験移植癌に対して、強力な制癌効果を示すことが認められているが、毒性作用を有するため、医薬品としての有用性が自ら、制限されている現状にある。

本発明者らはかかるカンプトテシンについて、毒性及び副作用が弱く、かつ、抗腫瘍効果の強いカンプトテシン誘導体を得るべく種々のカンプトテシン誘導体合成し、鋭意探索の結果、一般式



(式中Rは低級アルキル基、又は CH_2OR^1 又は CHO 又は COOH であり、 R^1 はH又はアシル基である)

で表わされるカンプトテンシ誘導体がその目的に適うものであることを見出した。本発明はかかる知見に基づくものである。

本発明の抗腫瘍剤においては、前記の一般式のカンプトテンシ誘導体はそのまま、あるいはアルカリ金属又はアルカリ土金属の水酸化物又は塩を用いて塩に交換したものをを用いることができる。

本発明の抗腫瘍剤は、非経口投与により使用するのが良く、注射剤、点滴剤などの剤形で投与することができる。

本発明の抗腫瘍剤の製剤化は常法に従い行うことができる。

前記一般式のカンプトテンシ誘導体ならびにその塩の投与量は、治療目的によっても異なるが、通常、成人1日当り、2mg~200mg/kg(体重)であり、特に好ましい量は、10~25mg/kg(体

- 3 -

前掲一般式の物質について抗腫瘍効果試験を行った結果を表1に示す。

表 1

投与物質 (R)	経口投与量 (mg/kg)	T/C 多
CH_3	2.5	1.63
CH_2CH_3	2.5	>3.50
CH_2OH	2.5	1.30
CHO	2.5	>2.96
COOH	2.5	1.20
$\text{CH}_2\text{OOCCH}_3$	2.5	>3.90
$\text{CH}_2\text{OOCCH}_2\text{CH}_3$	2.5	1.78
$\text{CH}_2\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	2.5	>3.19

註：Rは前掲一般式における置換基を示す。

実験例 2

前掲一般式の物質について最少有効量と最大耐量を調べ、それから療效係数を算定した。

量)である。

次に本発明の抗腫瘍剤の抗腫瘍作用及び毒性について説明する。

(1) 抗腫瘍作用

腫瘍細胞における抗腫瘍効果は、他の造血動物における抗腫瘍効果に対しても常類できる結果をもたらすことは既に明らかにされているので本発明者らはマウスをモデルとして抗腫瘍効果を検討した。

実験例 1

実験方法

5×10^5 個のマウス白血球細胞 L1210 を BD₁ マウス1群10匹に腹腔内移植し、移植後1日目から連続5日間投与物質を腹腔内に投与し、その延命効果を観察した。抗腫瘍効果は上記の実験条件で薬物投与時の平均生存日数(T)と薬物非投与群の平均生存日数(C)との比(T/C多)をもつて表わし、120日以上延命した場合を有効と判定した。

実験結果

- 4 -

表 2

投与物質 (R)	最少有効量 (mg/kg)	最大耐量 (mg/kg)	療效係数 ^{*)}
H (カンプトテンシ)	5	2.5	5
CH_3	3	3.0	1.0
CH_2CH_3	2	2.5	1.25
CH_2OH	3	3.0	1.0
CHO	5	5.0	1.0
COOH	1.0	2.00	2.0
$\text{CH}_2\text{OOCCH}_3$	2	2.5	1.25
$\text{CH}_2\text{OOCCH}_2\text{CH}_3$	5	3.5	7
$\text{CH}_2\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	7	2.5	1.25

* 療效係数 = $\frac{\text{最大耐量}}{\text{最少有効量}}$

表2に示されるように、本発明に使用する一般式のカンプトテンシ誘導体は、カンプトテンシに比して、療效係数は約2倍~4倍に増大しており、カンプトテンシに比べて抗腫瘍効果の上昇あるいは毒性の低下が認められる。

実験例 3

- 5 -

- 6 -

体重20g前後のBDF₃雄マウスを1群20匹ずつ用い、一般式のカンブトテンシ誘導体を投与し、急性性(LD₅₀)を調べた。

その結果を表3に示す。LD₅₀は投与物質投与後、一週間にわたるマウスの生死の状態を観察し、その致死量からリツチフィールドウイロクメン法により算出した。

表 3

投与物質因	LD ₅₀ (mg/kg)
CH ₃	40
CH ₂ CH ₃	30
CH ₂ OH	40
CHO	65
COOH	250
CH ₂ OCOCH ₃	30
CH ₂ OCOCH ₂ CH ₃	50
CH ₂ OCOCH ₂ CH ₂ CH ₃	30

註1：投与部位は経口である。

2：Rは前掲一般式における置換基を示す。

- 7 -

層を硫酸マグネシウムで乾燥し、伊通し、減圧で乾固する。残留物をシリカゲル(10g)カラムクロマトグラフィ(クロロホルム)により精製し、更にn-ヘキサン-クロロホルムより再結晶すると標記化合物127mg(収率17.5%)が黄色針晶として得られる。

製造例 2

7-エチルカンブトテンシの製造

カンブトテンシ(1.00g, 2.87mmole)、硫酸第一・七水和物(5.60g, 2.01mmole)及び1-プロパノール(6ml, 8.61mmole)を硫酸水溶液(水30ml、濃硫酸15ml)に溶解し、氷冷条件下に30分-過酸化水素水(2.1ml, 2.01mmole)を少量ずつ滴加する。過酸化水素水の滴加後室温で1時間撹拌を続ける。反応混合物を水(2.5L)で希釈し、クロロホルム(2.5L)で抽出する。このクロロホルム層を硫酸マグネシウムで乾燥し、伊通し、減圧で乾固し、残留分をシリカゲル(15g)カラムクロマトグラフィ(クロロホルム)で分離精製し、

- 9 -

以下に本発明の試薬原料の有効成分である前掲の一般式の化合物の製造例を述べる。

製造例 1

7-メチルカンブトテンシの製造

硫酸第一・七水和物(4.17g, 15mmole)及びエタノール(5ml, 60mmole)を水(30ml)に溶解し、カンブトテンシ(700mg, 2mmole)を懸濁させ、硫酸(15ml)を少量ずつ加えて溶解する。混合物に氷冷条件下、30分-過酸化水素水(1.63ml, 16mmole)を少量ずつ滴加する。過酸化水素水の滴加後、室温で6時間撹拌する。反応混合物に硫酸第一・七水和物(2.0g, 7.2mmole)を加え、氷冷撹拌下、30分-過酸化水素水(1ml, 9.8mmole)を滴加し、室温で15時間撹拌を続ける。反応完結後は、更に硫酸第一・七水和物(4.2g, 15mmole)及び30分-過酸化水素水(1.5ml, 14.7mmole)を加え、室温で8時間撹拌を続ける。この反応混合物を水(2.5L)で希釈し、クロロホルム(3L)で抽出する。クロロホルム

- 8 -

層にn-ヘキサン-クロロホルムより再結晶する。標記化合物265mg(収率25.3%)が淡黄色針晶として得られる。

製造例 3

7-ヒドロキシメチルカンブトテンシの製造

カンブトテンシ(100mg, 0.287mmole)をメタノール(25ml)に懸濁し、氷冷下75分-硫酸(10ml)を加えて溶解し、蒸発濃撹拌下過硫酸アンモニウム(15g, 0.0657mmole)の水溶液(100ml)を16時間に亘って滴加する。反応混合物を水(100ml)に注ぎ、ジオキサン-クロロホルム混合液(1:1, 500ml)で抽出し、さらにクロロホルム(100ml×3)で抽出する。これらの有機層を合せて無水硫酸マグネシウムで乾燥し、伊通し、減圧で乾固し、残留した橙色の固体をメタノール(200ml)を加えて室温(50~60°)30分間撹拌し不溶物を伊取し、減圧で乾燥し、ジメチルホルムアミド-ジオキサンより再結晶すると、標記化合物40mg(36.9%)が淡黄色針晶状結晶を得る。

- 10 -

274~276°(dec.)として得られる。Rf値0.125
(5%メタノールクロロホルム)。

製造例 4

カンブトテンシ-7-カルボン酸の製造

製造例3により得られた7-ヒドロキシメチ
ルカンブトテンシ(200mg, 0.529mmole)を
ジオキサン(300ml)に溶解し、これにJones
試薬(2.5ml, 約5.35mmole)を加え室温で2日
間攪拌する。析出物を除去し、母液を減圧で乾
固し、残留物に水(15ml)を加えて不溶物を
回収し、水(50ml)で充分に洗う。析出物を
ジオキサンを用いて再結晶により精製すると、
カンブトテンシ-7-カルボン酸が淡黄色針状
晶(m.p. >300°)として得られる。収量95
mg(45.8%)。

製造例 5

7-アセトキシメチルカンブトテンシの製造

製造例3により得られた7-ヒドロキシメチ
ルカンブトテンシ(200mg, 0.529mmole)を
ピリジン(40ml)に室温で溶解し、放冷後無水

-11-

ホルム、n-ヘキサンより再結晶を行うと、
210mg(48.4%)の淡黄白色針晶が得られる。
m.p. 279~280°C

製造例 7

製造例3により得られた7-ヒドロキシメチ
ルカンブトテンシ378mg(1mmole)を無水ジ
メチルホルムアミド80mlに室温で溶解し、これ
に無水ピリジン1ml、無水n-ヘキサン1mlを加え
60°Cで4時間攪拌する。反応終了後エタノ
ール10mlを加え、しばらく攪拌して過剰の無
水物を分解した後、母液を減圧で除去し、残留物
をシリカゲル(10g)カラムクロマトグラフ
イ(クロロホルム)により精製し、クロロホル
ムn-ヘキサンより再結晶を行うと、160mg
(35.7%)の7-ブチリロキシメチルカンブト
テンシの淡黄白色針晶が得られる。

m.p. 252~254°C

製造例 8

製造例3により得られた7-ヒドロキシメチ
ルカンブトテンシ(200mg, 0.529mmole)を

-13-

特開昭57-116015(4)

トリフルオロ酢酸(500mg, 1.43mmole)を加
え40°Cで8時間攪拌する。反応混合物は減圧
で濃縮範囲し、残留物をシリカゲル(50g)
カラムクロマトグラフイ(クロロホルム)に
より分離、精製すると、20-0-トリフルオ
ロアセチル-7-トリフルオロブチリロキシメ
チルカンブトテンシが淡黄白色の結晶として得ら
れる。収量120mg(39.7%)。

製造例 6

製造例3により得られた7-ヒドロキシメチ
ルカンブトテンシ378mg(1mmole)を無水ジ
メチルホルムアミド80mlに室温で溶解し、放冷
後、無水ピリジン1mlと無水プロピオン酸1ml
を加え、室温で24時間攪拌する。次いで、
エタノール10mlを加え、しばらく攪拌して過剰
の無水物を分解した後、母液を減圧で除去し、残
留物をシリカゲル(10g)カラムクロマトグ
ラフイ(クロロホルム)により精製すると、420
mg(96.8%)の7-プロピオニロキシメチルカン
ブトテンシの結晶が得られる。これをクロロ

-12-

H₂O(20ml)に懸濁し、これに濃硫酸(6ml)
を少量ずつ加えて全体を溶解とし、3.05時間
煮沸還流する。放冷後反応混合物を氷水(500
ml)で希釈しCHCl₃(500ml×3)で抽出する。
この際水層とCHCl₃層の両層に不溶な固体は母
液をシリカゲルカラムクロマトグラフイ(CHCl₃)
により精製すると39mg(収率29.7%)のカ
ンブトテンシ-7-アルデヒド〔黄色プリズム晶
m.p. 256~260°C(分解)〕が得られる。

次に本発明の抗腫瘍剤の調剤例について記
す。

例 1

カンブトテンシ-7-カルボン酸を等モルの
NaOHを含む0.03NのNaOH溶液に溶解した後
通過して得られる母液を濃縮乾燥して得られる
カンブトテンシ-7-カルボン酸のNa塩を1000
mgを含有するようニバイアルに無菌的に封入、

-14-

密封した後冷蔵所に保存する。

使用前に生理的食塩水300mlを添加して凍状に応じて1日10~300mlを静脈内への注射又は点滴により投与する。

例 2

7-エチルカンブトキシンを1500mgを含有する他は例1と同様の方法により1日10~300mlを静脈内への注射又は点滴により投与する。

特許出願人 株式会社 ヤクルト本社

代理人 弁護士 南 孝 夫

特開昭57-116015(5)

手 続 補 正 書

昭和56年5月19日

特許庁長官 島 田 泰 衡 殿

1. 事件の表示

昭和56年特許願第1/50号

2. 発明の名称

抗 腫 瘍 剤

3. 修正をする者

事件との関係

特許出願人

住所 東京都港区東新橋1丁目9番9号

名称 株式会社 ヤクルト本社

4. 代理人

住所 東京都千代田区麹町3丁目2番地
相互興ビル

電話 (265) 9649

氏名 (7270) 南 孝 夫



5. 修正命令の日付 自 発

6. 修正の対象 明 細 書

-15-

7. 修正の内容

- (1) 明細書6頁、表2中の最少有効量の欄の最下行の「7」の記載を「2」と訂正します。
- (2) 同/2頁/行の「トリフルオロ酢酸」の記載を「酢酸」と訂正します。
- (3) 同/2頁/行の「 1.43mmole 」の記載を「 3.00mmole 」と訂正します。
- (4) 同/2頁5~6行の「20-0-トリフルオロアセチル-7-トリフルオロアセトキシメチ」の記載を「7-アセトキシメチ」と訂正します。
- (5) 同/2頁8行の「(39.7%)」の記載を「(54.0%)」と訂正します。

以 上